Les milieux de culture

LE MILIEU DE HAJNA -KLIGLER

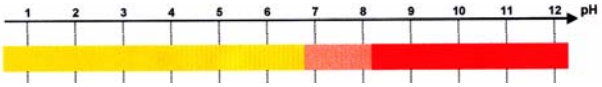
Le milieu de Hajna-Kligler est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques. Il est très utilisé dans l'identification des *Enterobacteriaceae*.

Composition du milieu

Composition en grammes par litre d'eau distillée.

Extrait de viande de bœuf	**3g**
Extrait de levure	**3g**
Peptone (riche en lysine)	**20g**
NaCl	**5g**
Citrate ferrique	**0,3g**
Thiosulfate de sodium	**0,3g**
Lactose	**10g**
Glucose	**1g**
Rouge de phénol (solution à 1%)	**5mL**
Agar	**12g**
Eau distillée (qsp)	**1L**

Indicateur rouge de phénol



Technique

Ensemencer abondamment la surface par stries serrées ou par inondation, puis le culot par simple piqûre, à l'aide de la même pipette boutonnée. **Il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement la capsule afin de permettre les échanges gazeux**. Mettre à l'étuve 24h à 37°C.

Lecture

Utilisation de sucres

Deux glucides sont retrouvés dans le milieu de Hajna-Kligler, **le glucose et le lactose**. L'utilisation des glucides par une bactérie suit toujours la **loi de la diauxie** : quand une bactérie est capable de cataboliser deux glucides dont le glucose, elle utilise dans un premier temps le glucose jusqu'à son épuisement dans le milieu. Elle utilisera ensuite le deuxième glucide (ici le lactose). *Il est par ailleurs important de se rappeler qu'une bactérie glucose - est toujours lactose -, le catabolisme du lactose passant par celui du glucose*

(l'hydrolyse du lactose donne les deux oses simples glucose et galactose).

La technique particulière d'ensemencement du milieu Hajna-Kligler permet de distinguer les phénomènes selon leur lieu, pente ou culot.

✓ Sur la pente :

L'utilisation de la source de carbone est aérobie si la capsule est correctement dévissée. Le principal acide produit est le dioxyde de carbone. On peut distinguer plusieurs cas de figure :

Pierre-Yves Guillaume
Professeur de biotechnologie génie biologique

Les milieux de culture

- Les bactéries **glucose -** alcalinisent le milieu en utilisant les peptones.
- Les bactéries **glucose +** et **lactose +** acidifient le milieu.
- Les bactéries **glucose +** et **lactose -** acidifient le milieu dans un premier temps par utilisation du glucose. Ce glucide étant en faible concentration (voir composition du milieu) il sera rapidement épuisé. Les bactéries utilisent les peptones, ce qui conduit à une alcalinisation du milieu.

✓ Dans le culot :

L'utilisation de la source de carbone est anaérobie. Les principaux acides organiques produits sont non volatils : ils restent enfermés dans la gélose.

- Les bactéries **glucose -** laissent le milieu alcalin en utilisant les peptones. Ces bactéries sont en général aérobies strictes, et leur culture sera normalement nulle dans le culot.
- Les bactéries **glucose +** et **lactose +** acidifient le milieu.
- Les bactéries **glucose +** et **lactose -** acidifient dans un premier temps le milieu par utilisation du glucose. Comme sur la pente le glucose est en faible concentration et il sera rapidement épuisé. Les bactéries utiliseront alors les peptones en alcalinisant le milieu. Cependant les acides produits par fermentation sont des acides relativement forts et le milieu reste acide.

Production d'H_2S

La présence de thiosulfate de sodium et de Fer III dans ce milieu permet d'apprécier la capacité des bactéries à produire de l'H2S à partir du thiosulfate. Cette production est matérialisée par la formation à la limite du culot et de la pente d'un précipité noir de sulfure de fer.

Résultats

a) Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose + : culot jaune et pente jaune.

b) Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose - : culot jaune et pente rouge.

c) Bactérie de type oxydatif du glucose ou glucose - et lactose - : culot rouge et pente rouge.

d) Bactérie de type oxydatif du glucose et lactose + : culot rouge et pente jaune. Ces bactéries sont aérobies strictes : le culot ne doit pas présenter de culture et sera donc rouge. La pente peut présenter une culture et sera jaune si l'acidification est suffisante et rouge dans le cas contraire**. Le milieu de Kligler n'est généralement pas utilisé pour de telles bactéries,** qui sont souvent lactose -, et des expériences complémentaires sont faites pour préciser le résultat**.**

Aspct initial

Lactose – Glucose +

Lactose + Lactose +

Souche oxydative ou glucose -

Souche oxydative ou Lactose +

H_2S -

H_2S +

Pierre-Yves Guillaume
Professeur de biotechnologie génie biologique